#### PATENT COOPERATION TREATY

From the	INTERNATIONAL BUREAU
То:	

**PCT** 

#### **NOTIFICATION OF ELECTION**

(PCT Rule 61.2)

United States Patent and Trademark Office (Box PCT) Washington D.C. 20231 United States of America

Date of mailing (day/month/year) 05 December 1995 (05.12.95)	in its capacity as elected Office
International application No. PCT/NL95/00106	Applicant's or agent's file reference P HP/LR/vS-1
International filing date (day/month/year) 21 March 1995 (21.03.95)	Priority date (day/month/year) 21 March 1994 (21.03.94)
Applicant	
VAN SCHOUWENBURG, Gerrit, Antoni	

1.	The designated Office is hereby notified of its election made:
	X in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
	20 October 1995 (20.10.95)
	in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:
2.	The election X was
	was not
	made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).
l	

The International Bureau of WIPO	Authorized officer
34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Marie-José Devillard
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 730.91.11

## **PCT**

### INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference		See Notification of Transmittal of International				
P HP/sm/vS-1	FOR FURTHER ACTION Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)					
International application No.	International filing date (day/i	date (day/month/year) Priority date (day/month/year)				
PCT/NL 95/00106	21/03/1995	21/03/1994				
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC						
A23L1/31						
Applicant  WAY GOVERNMENTER Corrit Antoni						
VAN SCHOUWENBURG, Gerrit Antoni						
2. This REPORT consists of a total  This report is also accompanies and are the book (see Rule 70.16 and Section	sheets, including nied by ANNEXES, i.e., sheets asis for this report and/or sheets 607 of the Administrative Instru	g this cover sheet.  s of the description, claims and/or drawings which have scontaining rectifications made before this Authority				
These annexes consists of a total of sheets.						
3. This report contains indications and corresponding pages relating to the following items:						
t X Basis of the report						
11 Priority						
111 Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability						
IV Lack of unity of invention						
V Reasoned statement u citations and explanati	V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement					
VI Certain documents cit	લ્લ					
VII Certain defects in the	international application					
VIII Certain observations on the international application						
Date of submission of the demand	Date of submission of the demand  Date of completion of this report					
20/10/1995		9 4, 05. 96				
Name and mailing address of the IPEA/	Aut	thorized officer ( la ule				
European Patent Office		DiMehor				
D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 52	3656 cpmu d	€S° AACDG.				
Fax: (+49-89) 2399-4465	Tele	cphone No.				
Form PCT/IPEA/409 (cover sheet) (Janua	ry 1994) (28/11/19	333)				

#### INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

I.	Basis of the report	
1.	This report has been drawn up on the basis of (Repl Office in response to an invitation under Article 1 not annexed to the report since they do not contain	acement sheets which have been furnished to the receiving  4 are referred to in this report as "originally filed" and are amendments.):
	[x] the international application as originally	filed.
	[ ] the description, pages	, as originally filed,
	pages	filed with the demand,
	pages	, filed with the letter of,
	pages	, filed with the letter of,
	[ ] the claims, Nos.	, as originally filed,
		, as amended under Article 19,
		, filed with the demand,
	Nos	, filed with the letter of,
	Nos	, filed with the letter of,
	[ ] the drawings, sheets/fig	, as originally filed,
	sheets/fig	filed with the demand,
	sheets/fig	, filed with the letter of,
	sheets/fig	, filed with the letter of
		<b>c</b> .
`	. The amendments have resulted in the cancellation of	
	[ ] the description, pages	·
	[] the claims, Nos.	•
	[ ] the drawings, sheets/fig	•
_	the second secon	set the amandments had not been made since they have been
3.		of) the amendments had not been made, since they have been
	considered to go beyond the disclosure as file	ed (Rdie 70.2(C)):
4	. Additional observations, if necessary:	
	•	

and Carried Land

#### INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

TATEMENT		
Novelty (N)	Claims	YES
	Claims 1 to 18	
Inventive Step (IS)	Claims	YES
	Claims 1 to 18	NO
Industrial Applicability (IA)	Claims 1 to 18	YES
	Claims	NO

#### 2. CITATIONS AND EXPLANATIONS

1). The subject-matter of the independent claims 1 and 18 can not be considered as meeting the requirements of Articles 33.2 and 33.3 PCT.

Methods for the preparation of and reconstituted meat as claimed are already well known from the prior art:

D1= US-A-3740235 (claims 1,2 and column 4, line 37 to column 5, line 10);

D2=WO-A-8502520 (claim 1, example 1); and

D3 = EP-A-0289862 (claims 1,3,8,9 and 13).

Consequently, the subject-matter of claims 1 and 18 is not new.

2). In any claims amended to overcome the novelty objection it will be necessary that said claims satisfy the requirements of inventive step (Articles 33.3 PCT).

With regard to the assessment of inventive step

#### INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

documents D1, D2 and D3 are also relevant.

It appears, that in view of said documents, which are considered to represent the closest prior art, the problem of the present application could have been solved in an obvious way.

3). A positive International Preliminary Examination Report for the subject-matter of the independent claims 2 to 17 can only be established when they refer to independent claims which meet the requirements of the PCT.

#### INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

.To meet the requirements of Rule 5.1 a) ii) PCT, the documents D1, D2 and D3 should be identified in the description and the relevant background art disclosed therein should be briefly discussed.

From the INTERNATIONAL PRELIMINARY EX	AMINING AUTHORIT	Y	PCT
To: PRINS, Hendrik Willem ARNOLD & SIEDSMA Sweelinckplein 1 NL-2517 GK The Hague PAYS-BAS	P-1 2 4 020	i395	WRITTEN OPINION (PCT Rule 66)
		Date of mailing (day/menth/year)	2 0. 12. 95
Applicant's or agent's file reference P HP/sm/vS-1			within 3 months/days From the above date of mailing
International application No.	International filing date	: (day/month/year)	Priority date (day/month/year)
PCT/NL 95/00106	21/03/1995	······································	21/03/1994
International Patent Classification (IPC) of	or both national classificat	ion and IPC	
	A23L1/31		
Applicant			
VAN SCHOUWENBURG, Ger	0.7		
IV Lack of unity of invention V Reasoned statement under citations and explanations VI Certain documents cited VII Certain defects in the interview of the control of the c	inion with regard to novel in or Rule 66.2(a)(ii) with reg such statements application the international application to this opinion, above. The applicant may tale 66.2(d), accompanied, where apage of the amendments, active to submit amendments on to consider amendments.	and to novelty, invention  20-3-  21-9  on  peropriate, by amendment Rules 66.8 and 66.9.  see Rule 66.4. s and/or arguments, see	odustrial applicability:  The step or industrial applicability;  The and woord  The indibution of that time limit, request this Authority  ents, according to Rule 66.3.
If no reply is filed, the international p  4. The final date by which the internation examination report must be established.	nal preliminary		t on the basis of this opinion.
Name and mailing address of the IPEA/		Authorized officer	
European Patent Office		Examiner	(c) Weber
D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523 Fax: (+49-89) 2399-4465	656 epmu d	Formalities officer (incl. extension of tin Telephone Ro.	Pamela Tantum

# Intern. application No. PCT/NL95/00106

#### WRITTEN OPINION

I. Basis of the opinion	
	ubstitute sheets which have been furnished to the receiving Offic referred to in this opinion as "originally filed".):
[x] the international application as originally	
[ ] the description, pages	
	, filed with the demand,
pages	, filed with the letter of,
[ ] the claims, Nos.	, as originally filed,
Nos	, as amended under Article 19,
	, filed with the demand,
Nos.	, filed with the letter of,
[ ] the drawings, sheets/fig	, as originally filed,
	, filed with the demand,
sheets/fig	, filed with the letter of,
2. The amendments have resulted in the cancellation	of:
[ ] the description, pages	
[ ] the claims, Nos.	·
[ ] the drawings, sheets/fig	·
3. [ ] This opinion has been established as if (some considered to go beyond the disclosure as fi	e of) the amendments had not been made, since they have been led (Rule 70.2(c)):
4. Additional observations, if necessary:	

#### WRITTEN OPINION

STATEMENT	
Novelty (N)	Claims 1 to 18
	Claims
Inventive Step (IS)	Claims 1 to 18
	Claims
Industrial Applicability (IA)	Claims
	Claims

#### 2. CITATIONS AND EXPLANATIONS

1). The subject-matter of the independent claims 1 and 18 can not be considered as meeting the requirements of Articles 33.2 and 33.3 PCT.

Methods for the preparation of and reconstituted meat as claimed are already well known from the prior art:

D1= US-A-3740235 (claims 1,2 and column 4, line 37 to column 5, line 10);

D2= WO-A-8502520 (claim 1, example 1); and D3= EP-A-0289862 (claims 1,3,8,9 and 13).

Consequently, the subject-matter of claims 1 and 18 is not new.

2). In any claims amended to overcome the novelty objection it will be necessary that said claims satisfy the requirements of inventive step (Articles 33.3 PCT).

With regard to the assessment of inventive step

#### WRITTEN OPINION

documents D1, D2 and D3 are also relevant.

It appears, that in view of said documents, which are considered to represent the closest prior art, the problem of the present application could have been solved in an obvious way.

3). A positive International Preliminary Examination Report for the subject-matter of the independent claims 2 to 17 can only be established when they refer to independent claims which meet the requirements of the PCT.

#### WRITTEN OPINION

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

.To meet the requirements of Rule 5.1 a) ii) PCT, the documents D1, D2 and D3 should be identified in the description and the relevant background art disclosed therein should be briefly discussed.

.The description must be brought into conformity with the new claims to be filed; care should be taken during revision, especially of the introductory portion including any statements of problem or advantage, not to add subject-matter which extends beyond the content of the application as originally filed, Article 34.2 b) PCT.

.When amending the claims the Applicant is requested to identify those passages in the specification as originally filed on which the amended claims are based.

#### **PCT**

#### WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION



#### INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification <sup>6</sup> :		nternational Publication	Number:	<b>WO</b>	95/25441
A23L 1/31	A1	nternational Publication	Date: 28 S	September 199	5 (28.09.95)
(21) International Application Number: PCT/NL  (22) International Filing Date: 21 March 1995 (2)	) Designated States: CA, DE, DK, ES, FR, GI				
(30) Priority Data: 9400442 21 March 1994 (21.03.94)	N	blished With international se In English translation	4		
(71)(72) Applicant and Inventor: VAN SCHOUWENBUI rit, Antoni [NL/NL]; Lavendel 3, NL-8101 CR Raa					
(74) Agent: PRINS, Hendrik, Willem; Arnold & Siedsmainckplein 1, NL-2517 GK The Hague (NL).					
(54) Title: METHOD FOR PREPARING A COHEREN	T PIE	MEAT FROM SMALL	ER PIECES	S OF MEAT,	AND THE

#### COHERENT PIECE OF MEAT OBTAINED

(57) Abstract

The invention relates to a method for manufacturing a coherent, robust piece of meat from smaller pieces of meat, wherein the smaller pieces of meat are treated with one or more edible salts in order to form a layer with solubilized proteins on the surface of the smaller pieces of meat and wherein the pieces of meat are held against each other to form the coherent piece of meat, characterized in that the solubilized proteins are selectively denatured and coagulated such that the smaller pieces of meat are mutually joined but themselves substantially retain the properties of unprocessed raw meat, and to the obtained coherent piece of meat.

1

# METHOD FOR PREPARING A COHERENT PIECE OF MEAT FROM SMALLER PIECES OF MEAT, AND THE COHERENT PIECE OF MEAT OBTAINED

The invention relates to a method for manufacturing a coherent piece of meat from smaller pieces of meat and to the obtained coherent piece of meat.

It is known that through massaging of meat with common salt and/or other (edible) salts a layer of solubilized proteins forms on the surface of the meat. Such a treatment can be performed for instance by massaging and tumbling salted pieces of meat for a time in a rotating drum. It is also known that pieces of meat processed in such a manner can be pressed against each other, for instance in a mould, whereby after a time there occurs a certain cohesion between the pieces of meat.

The adhesion obtained in this manner between the pieces of meat is however unsubstantial and the obtained composite piece of meat easily falls apart into the original pieces.

Nor does a piece of meat formed in this manner have cutting strength, that is, it cannot be cut without falling apart, or hardly so.

15

Detween pieces of meat can be obtained by heating the pieces of meat massaged with salt and then pressed together to a temperature of ± 65°C or higher in the core (the so-called boiling process). The solubilized proteins located at and on the surface of the meat are coagulated by this heating process whereby the pieces of meat are firmly joined to each other. Many cooked meat products are manufactured in this manner from comparatively small pieces of meat.

It is therefore possible with the known methods to form a raw piece of meat from smaller pieces of meat, which 30 however falls apart easily and which in fact can only be sold

PCT/NL95/00106 WO 95/25441

5

25

2

in a form-retaining packaging such as a can or, in the case of smaller constituent parts, an intestinal casing.

Alternatively, it is possible with the known methods to manufacture a cooked composite piece of meat.

However, in a piece of meat thus obtained in the known methods by boiling or at least a heat treatment at relatively high temperature, not only are the proteins on the surface of the constituent pieces of meat coagulated but the nonsolubilized proteins in the interior of the constituent pieces are also denatured. The thus obtained piece of meat has properties completely different from raw meat in terms of taste, bite etc.

The above described known methods do not provide the option of manufacturing from smaller pieces of meat a large, 15 firmly coherent piece of meat, the constituent parts of which are still raw. This means that it is not possible with the known art to manufacture for instance a beef-steak formed from pieces. This has the result that pieces of meat which are per se of good quality but have small dimensions are 20 treated as waste meat.

It is noted that a method is described in the European patent application 0201975 according to which composite raw pieces of meat can be prepared. According to this known method the pieces of meat for joining together are mixed with a protein solution acting as a sort of glue and containing fibrinogen and thrombin and preferably also catalytic amounts of transaminase and calcium ions. A drawback to this known method is that the formed mixture has to be held in a mould for a relatively long time, in the order of ± 10 hours. In 30 addition, blood plasma with an increased fibrinogen concentration is used as protein solution, which is a great drawback.

The invention now has for its object to make available a method with which it is possible to manufacture composite raw pieces of meat without a protein solution, whether or not in the form of blood plasma, having to be added.

For this purpose a method is provided according to the invention for manufacturing a coherent, robust piece of meat from smaller pieces of meat, wherein the smaller pieces of

3

meat are treated with one or more edible salts in order to form a layer with solubilized proteins on the surface of the smaller pieces of meat and wherein the pieces of meat are held against each other to form the coherent piece of meat, 5 characterized in that the solubilized proteins are selectively denatured and coagulated such that the smaller pieces of meat are mutually joined but themselves substantially retain the properties of unprocessed raw meat.

The invention is therefore based on the insight that it 10 is possible selectively to partly denature and coagulate solubilized proteins located on the surfaces of the relatively small pieces of meat without the proteins in the interior of the pieces or portions of meat themselves being denatured. The invention will be further elucidated 15 hereinbelow.

In denaturation of proteins the proteins unfold and a stable network can be formed between the proteins, so-called coagulation. During unfolding of the proteins in a watery environment the structure of the proteins changes, S = S 20 bridges are broken and the apolar amino acid groups come to be exposed. In the coagulation phase a network is formed which is stabilized by electrostatic forces and hydrophobic interactions, wherein in the final stage new intermolecular covalent S = S compounds can also be formed.

25

The denaturation of proteins is an endothermic process, so that energy must be supplied. During coagulation energy is once again released. The temperature at which denaturation begins and the energy required for denaturation are different for each type of protein. In addition, the speed of the 30 denaturation process is temperature-dependent. By treating meat with salt(s) a part of the proteins solubilizes. Denaturation for solubilized proteins is a similar process which takes place as described above. It is however the case that the proteins treated with salt are more stable due to 35 the double layer and that more energy and/or a higher temperature is needed to achieve denaturation. The electrical charge of protein molecules is also greatly influenced by the pH. The electrostatic bonds are charge-dependent and are therefore affected to a large extent by the pH, and this can

influence the coagulation process and thus the form and strength of the network.

The processes which are of importance for the present invention involve selective denaturation, and a selective 5 denaturation which can be accurately controlled. The term selective denaturation comprises a selection in accordance to place (between the meat parts in and on the surfaces of the meat parts) and/or a protein-selective denaturation. The objective here is to mutually join pieces of meat such that 10 "one piece" of meat is once again created, while the raw character of the meat is wholly retained. This is possible if coagulation takes place selectively on and/or close to the interfaces and the pieces of meat themselves are not denatured. The result is then a product which retains all the 15 characteristics of raw meat but in which (partial) coagulation has taken place on the interface between the parts, wherein bonds between proteins have been created which are strong enough to firmly bind together the meat parts.

To this end it is necessary in the first instance that 20 situated on the surface of the meat parts are sufficient quantities of proteins which, after denaturation, can form a network of the desired strength. This can be achieved by massaging or tumbling the meat with salt (common salt and/or other edible alkali metal salts), whereby a part of the 25 proteins can solubilize and extrudate, while the proteins on the surface of the meat parts are also "activated".

A selective denaturation of the solubilized proteins on the surface of the meat parts can now be achieved in different ways.

30

This can be done in the first place by causing the conditions necessary to bring about denaturation to occur only locally, i.e. on the interface, and then to form a coagulate. This can be realized for instance by creating a pH decrease specifically on the interface between the meat parts 35 with the layer of solubilized proteins. This pH decrease changes the electrostatic charge of the protein molecules and thereby initiates the coagulation process, wherein electrostatic bonds occur first and subsequently hydrophobic

PCT/NL95/00106 WO 95/25441

5

and finally covalent bonds can also be formed. This process progresses relatively slowly and takes several hours.

The bonding between meat parts obtained in this manner is of another character than the known acid-gel formation as 5 known for instance from dry sausage preparation. This known acid-gel formation takes place at around or below the isoelectrical point and is a network formation of proteins which in the first instance is reversible, resulting in very weak bonds between the meat parts. The thus obtained cohesion is sufficient for a finely reduced product such as a dry sausage but is inadequate for larger meat pieces. The firmer join between the meat parts obtained according to the invention are comparable to the joins resulting from heat denaturation. The joins between the meat parts resulting from acid denaturation occur when locally the pH decreases very considerably, much lower than is the case in an acid-gel formation. The pH can for instance decrease 0.5 to 3, preferably 0.75 to 3, more preferably 1 to 2 pH points.

10

15

In a practical embodiment of the method according to 20 the invention smaller pieces of meat can be massaged for a time for instance in a rotating drum with salt and water. A layer of extrudated, solubilized meat proteins thereby forms on the outside of the meat parts. An additive causing delayed acidification (GDL [gluconodeltalacton] or an encapsulated 25 edible acid such as citric acid, lactic acid, tartaric acid etc.; a fat capsule or a sugar capsule can be used as capsule) is then distributed homogeneously through this layer and the meat parts placed in a mould or container and held under light pressure. The protein layer denatures and within several hours, depending on the chosen form of delay, a firm 30 adhesive layer forms between the pieces of meat. It is important that the pH decrease occurs only locally, that is, in the layer of solubilized proteins and optionally on the surface of the pieces of meat but not in the interior of the pieces of meat. The amount of acid released both in absolute sense and per unit of time must be such that the pH in the boundary layer decreases rapidly to a pH of 1 to 2. The acid then diffuses from the boundary layer and spreads through the meat mass. By correctly selecting the amount of acid and the

6

delaying mechanism a considerable decrease in the pH on the interface can be temporarily achieved, while after the balance has been restored the total pH decrease is small, so that the other proteins do not denature and the taste is not affected either.

The desired selective denaturation can also be realized in other ways. Any chemical substance which in a determined concentration brings about denaturation can in fact be used for this purpose.

A second possibility of bringing about selective denaturation is to give the pieces of meat a heat treatment after the massaging or tumbling with salt(s), so that only (determined) proteins located between the pieces of meat and on the surface thereof denature, this in a manner such that a sufficiently strong network is created to bind together the pieces but that the proteins defining the raw character of the meat do not denature, or hardly so.

10

35

In order to realize this use can be made of the fact that (a) different fractions of proteins coaqulate at 20 different temperatures, (b) there is a temperature/time relation for the denaturation/coagulation reaction, (c) due to the treatment with salt and the thereby resulting double layer, particular proteins have obtained a greater stability change relative to heat denaturation than other proteins, and 25 (d) the proteins enclosed in a particular structure, such as a muscle structure, are less temperature-sensitive than the (solubilized) proteins which are released by the massage with salt and which have extrudated onto the surface. All this enables choosing of a heat treatment such that at least a 30 part of the solubilized proteins between the pieces of meat forms into a network which binds together the pieces of meat, while the remaining proteins do not denature, or hardly at all, due to this heat treatment and the raw character of the meat is retained.

Muscle protein denatures in a number of mutually distinguishable and measurable phases. The reason for this lies in the fact that "meat protein" is in fact a mixture of different proteins. The most important of these are myosin and actin; the greater part of the muscle protein consists of

7

these proteins. These proteins are responsible for the structure and functioning of the contracting part of a muscle. In addition to these proteins there are also the sarcoplasmic proteins and the connective tissue protein (collagen).

Finally, there are also various water-soluble proteins occurring in very small quantities, including for instance myoglobin which is responsible for the colour of meat.

When for instance a determined amount of heat is now applied to the above mixture of muscle proteins, it is possible with the DSC (Differential Scanning Calorimetry) technique to identify that the core of the denaturation curve of respectively myosin, sarcoplasmic protein and actin lie at roughly 50, 63 and 80°C. Denaturation also takes place at lower temperatures but at a speed which decreases sharply as the temperature falls.

The behaviour of the above proteins, thus the location of the coagulation curve on the temperature scale and the height of the temperature at which coagulation begins, is further influenced by the pH and by the electrostatic charge resulting from added salts.

In order to now obtain the desired selective denaturation, a determined temperature range which is dependent on the pH, the electrostatic stability and the structure of the material must be passed through in a defined time. The maximum temperature which may be reached in order not to lose the raw character is about 60°C, a temperature at which the myofibrillar proteins denature. Denaturation already begins however at a temperature from 40°C, albeit very slowly. As the temperature rises it becomes increasingly more rapid. It is therefore important to pass through the higher part of the temperature range quickly and to cool quickly again to below a temperature at which the denaturation processes begin.

It can be seen from the foregoing that the said

temperature of 60°C is not an absolute upper limit. As long
as the supplied heat is absorbed substantially by the
solubilized proteins on the surfaces of the pieces of meat
the meat parts themselves are not affected, or hardly so.

PCT/NL95/00106 WO 95/25441

8

The treatment temperature can vary depending inter alia on the amount of solubilized proteins, the duration of the temperature treatment and the total quantity of meat for processing. Temperatures up to 90°C are herein possible.

As already noted, the heating process must be of short duration. The precise duration depends on a number of factors such as the amount of solubilized proteins, the pH and the electrostatic stability, the structure in which the proteins are incorporated, the total quantity of meat for processing, the thickness of the piece of meat for heating, the maximum temperature, the heat capacity of the container in which the meat is situated etc. An optimal combination of treatment duration and the mentioned, and possibly unmentioned, factors can in practice be determined experimentally in relatively simple manner. 15

10

20

It is desirable that at least the heating can proceed rapidly in a temperature range between a comparatively low temperature in the order of 35-45°C, for instance 40°C, and the maximum temperature, for instance 65-70°C. The same applies with regard to cooling after the temperature treatment.

It is noted that the heating methods wherein heat is generated into the material by high-frequency waves do not appear to be usable. Due to a varying fat, water and salt content in the material a sufficiently uniform heating cannot usually be obtained. A very strong heating can sometimes also occur locally (hot spots), whereby the raw character of the meat is lost there.

It is noted that when heat sources are used which act 30 on the meat mass from outside, such as for instance heated plates placed on either side of the meat mass, account must be taken of the fact that the outside of the meat mass reaches the desired temperature sooner than the core of the meat mass. During the heating the outer layer receives more 35 heat energy than the layers of the meat mass located more to the inside. On the other hand, the layers of the meat mass located more to the inside remain warm longer after ending of the heating process. What is important is that the total heat energy supplied to the meat parts is not so great that the

9

raw character of the meat, and particularly the outer layers of the meat mass, is lost. The correct heating method can be determined experimentally from case to case.

Cooling can take place in forced manner using one of 5 the techniques known for this purpose. The use can be envisaged here of a (salt) water bath or a cooling tunnel. Cooling can also take place with liquid nitrogen or CO2.

10

15

In order to achieve good results it is recommended that the average temperature increase amounts to 0.1-50°C/sec or more in the critical range of about 40°C to about 60°C, wherein the most homogeneous possible temperature through the product is desirable. The minimum requirement herein is 0.1°C/sec in the upward range from 40°C to the maximum temperature and the downward range back to 40°C. At a maximum temperature of 65°C the heating time amounts to a maximum of 500 sec. The temperature reached and the progress through the temperature range determine, subject to factors such as the raw material, double layer, pressure and pH, the extent of selective denaturation and the strength of the obtained 20 network. The consequence of the precisely defined heating range is that the option is provided of only denaturing and causing to coagulate for instance the fraction which denatures first, the protein myosin. The coagulate will moreover only form on the interfaces and in the interspace between the 25 separate meat parts; the structure of the proteins which are still located in the natural join in the pieces of muscle tissue and which are more stable will remain virtually unaffected. Proteins coagulating at the higher temperatures will not be affected either. Since these are mainly 30 responsible for the change in the appearance of meat as a result of heat treatment, the appearance will be that of a raw product despite the cohesion formed in the meat mass.

The protective influence of the double layer round the proteins treated with salt is of particular importance in this case. This enables a much more intensive heat treatment to be given than would otherwise be possible. A product not treated with salt would be further denatured even with a short heat treatment at for instance 50-60°C and be incapable, or hardly capable, of forming a network between

PCT/NL95/00106 WO 95/25441

10

the meat parts, and the raw character would be largely or wholly lost.

A factor which in addition to the heat treatment plays an important part in respect of the strength of the network 5 formed is the pH of the meat. The strength of the network can be influenced by varying the pH. The pH of the meat mass can advantageously be adjusted to a predetermined value prior to the heat treatment.

The pH has a strong influence on the electrostatic 10 charge of proteins, so that the double layer protection is affected. Account must however be taken of the fact that at the same time the stability of the other proteins also changes and in many cases the heat treatment will have to be adapted when the pH of the meat changes.

15

Thus for instance at a pH of 5.9 a robust network between the meat parts can be formed in a product with a given heat treatment without the product losing its raw character, while at a pH of 5.5 and an identical heat treatment this same product forms a much less robust network, 20 wherein the pieces of meat also denature and many of the raw characteristics are lost.

If in the second method of selective denaturation (thus by means of applied heat) small pieces of meat or finely reduced meat is used as basic material and the product is 25 spread out in a layer and held under light pressure, by then manipulating the denaturation process by means of heat a texture can be given to this meat which approximates the texture of red meat. If the denaturation process is continued by holding the product for a longer period at a higher 30 temperature such that extensive denaturation of proteins takes place, a product then results with the same texture as that of boiled red meat which does not look like fried mincemeat or hamburger as might be expected. The thickness of the product must however be chosen to correspond with the 35 created texture. Slices of ham, roast beef and the like can be made in this manner.

Pieces of meat of any size can be joined together in this manner. Meat greatly reduced in size can also be added. The desired end product and the appearance of the product

11

determine to a significant extent the choice of the type of meat used and the size of the pieces. Use of smaller pieces can result in a varied patterning, which may be visually less attractive but which is not a problem for instance in products sold in breadcrumbed form such as schnitzels.

Of importance in selective denaturation is the adhesive layer of solubilized proteins on the surface of the meat parts or portions. As already stated, this layer can be obtained by tumbling or mixing the meat with salt(s). It is also possible however to shorten or even completely avoid the tumbling process by adding a small quantity of forcemeat (lean meat with salt and water, greatly reduced in size) which can at least partially assume the part of adhesive layer.

It is also possible to form from smaller pieces pieces 15 of meat forming a properly coherent raw product by adding to the small pieces a forcemeat made from finely reduced lean meat, water and salt(s). Such a forcemeat contains released solubilized proteins. In addition to salt(s) and optionally 20 phosphate, other substances such as flavourings and aromatics, preservatives and the like can also be added to the forcemeat. In addition, the proteins of the pieces of meat can be slightly solubilized as described above using salt(s). This can take place after mixing with the forcemeat 25 as a result of the salt(s) in the forcemeat or separate additive salt(s). A mixture of the pieces of meat with for instance 10% forcemeat can then be formed and subjected to a heat treatment of the type described above in order to obtain a coherent but still raw piece of meat by denaturation and 30 coagulation of the solubilized proteins from both the pieces of meat and the forcemeat.

The pieces of meat can be pre-treated with salt and the salt may also have intruded slightly, but an intensive treatment by for instance tumbling is only necessary for a short time or not at all when the said forcemeat is used. The coagulated proteins may come from the pieces of meat and from the forcemeat, but also come substantially only from the forcemeat.

12

After the above described selective denaturation/ coagulation process the raw product is ready for further processing.

A meat product obtained according to any of the methods described in the foregoing can be treated in the same manner as a "normal", non-composite, raw piece of meat, for example cut, boiled, fried etc. The method according to the invention has been found during tests to be particularly suitable for preparing all types of raw meat products.

#### 10 Example 1: pork steaks

The raw material, lean pork, is cut by a pre-cutter into pieces of fist size and a weight of 100-200 g. The chunks of meat are tumbled under vacuum in a tumbler with 2% common salt, 0.05% sodium ascorbate, 0.1% polyphosphate and 15 3% ice. After 12 hours of tumbling 1.5% of encapsulated GDL is added. The capsule of GDL is fat and melts at a temperature above 60°C. The GDL content is 70%. Tumbling is subsequently continued for several more minutes until the GDL is well distributed through the meat mass. The meat mass now 20 consists of chunks of meat lying in a slimy layer of solubilized extrudated protein. The pH in the slime layer must lie above 5.7. This mass is filled into vacuum bags and vacuum-sealed. The vacuum-sealed meat is then laid in the bag into a mould in which it assumes a determined shape and the 25 material in the mould is placed under refrigeration (0-2°C). A maximum of 60 minutes is allowed between the addition of GDL and placing in the mould. The watery environment leaks the GDL out of the fat capsule and provides a dosaged local acidification. The type of capsule must be adapted to the 30 desired pH decrease per unit of time. After 24-72 hours the meat mass, now joined together and become stiff, is taken out of the bag and cut into slices of the desired thickness on a cutting machine. The slices can be sold fresh or deep-frozen. The final pH of the meat slices has decreased to a pH of 5.5-35 5.6 from a starting pH of 5.75.

13

#### Example 2: Schnitzel

Shoulders without bone, fat and rind and with the heel removed, are reduced in size in a mincing machine. This must take place such that the meat is not cut but pulled apart; 5 without however making a pasty mass of the meat. The purpose hereof is to make the surface area of each piece of meat as large as possible so that maximum adhesion to other pieces of meat is possible. The pieces of meat have an average cross section of 20 mm and weigh 10-40 g. After size reduction the 10 meat is mixed in a mixer for 3-4 minutes with 0.8-1.2% salt. Approximately 150 grams of the meat mixed with salt is portioned by a hamburger portioning machine onto a conveyor belt moving forward in stepwise manner. The belt runs over a heated plate which can heat the belt and the meat lying 15 thereon. Situated above this heated plate is a likewise heated plate which moves downward after each step of the belt and herein compresses the meat to the desired thickness. The meat is now heated between the plate and the belt. At a temperature of the plates of 50°C a heating time of 1.5 to 3 20 minutes is sufficient to obtain a properly coherent but completely raw product. After heating, the product runs through a bath with a battering liquid and is then coated with breadcrumbs.

#### Example 3: Pork blocks

35

A mixture of pork consisting of for instance shoulders, bellies, cuttings and fat is devilled a number of times by a pre-cutting plate such that a homogeneous mass results with pieces of meat of around 30-50 g. It is important here that during size reduction the pieces of meat tear apart slightly so that the pieces acquire an irregular shape and a large adhesion surface.

The meat is mixed intensively for 15 minutes with 2% nitrite salt, 0.5% ascorbate and 2% common salt such that a stiff meat dough is created. This must then rest for 24 hours so that the additives and the salt have the opportunity to spread evenly through the individual pieces of meat. Thereafter the dough is mixed again, under vacuum, after addition of further seasonings, reducing sugars, GDL and

14

other additives necessary for a good colour forming and, storage life.

The dough mass is now processed on a machine as described in the European patent application no. 90.201741.7, wherein on a conveyor belt it is extruded into a continuous slice with a thickness of about 1 cm. After being enclosed by a second conveyor belt the meat mass is heated under light pressure in 3 minutes to a temperature of 50°C. Smoke aroma is atomized onto the upper side of the now joined meat slice, whereafter the slice is frozen in a nitrogen tunnel to -6°C in 4 minutes. The lightly frozen continuous strip of meat is then cut into bars which, after 10 minutes of tempering are diced into blocks of 1x1x1 cm in for instance an Urschel cutting machine.

#### 15 Example 4: Ham blocks

20

30

Lean pork consisting of shoulder or ham meat is reduced in size and mixed as described in example 3, wherein the total salt addition is limited to 1.5 nitrite salt. After even distribution of the additives through the meat mass this is processed in similar manner, wherein special attention must however be paid that there are no air bubbles in the dough mass. At a thickness of 0.5 cm the product is gradually heated in phases between the belts in 8 minutes to a core temperature of 75°C. After the heating the continuous meat slice is pre-cooled by sprinkling with cold water. It is then further cooled in a nitrogen tunnel to between -2°C and +10°C. After being cut into bars to enable further processing the meat is cut into blocks or strips.

#### Example 6: Bacon

Lean pork is devilled by a 19 mm plate. Salt (4.5%), nitrite (150 ppm), ascorbate (0.05%) and a mixture of 50% encapsulated GDL and encapsulated lactic acid/lactate (1.5%) are mixed intensively through the meat.

Ham piece fat with attached meat is intensively tumbled together with 10-20% lean meat, 2% salt, 5% water for 1-1.5 hours, whereafter it is devilled by a 13 mm plate. After addition of 1.5% nitrite salt, 0.05% ascorbate and 1%

15

encapsulated GDL/lactic acid mixture it is mixed for a further 10 minutes. The meat and fat are now extruded in layers into slices of 20x50 cm such that a layered product results with meat layers of 1.5 cm and fat layers of 0.6-1.0 cm thickness. The bottom and top layers are meat.

This product is set aside in cooled state in a bag, under vacuum, for 48 hours. During this time the GDL and the lactic acid will leak out of the capsule and strongly acidify the surface of the meat portions such that a robust network is created which joins together the meat portions. A network is also formed in the fatty mass between the meat proteins which were added as lean meat and which due to the mixing with salt have formed a coating of solubilized proteins on the surface of the fat pieces. This network also continues onto the contact surface between meat and fat so that the layers are firmly joined to each other.

After freezing, the product can then be cut to strips, blocks or slices.

The extrusion method can also be adapted such that a layered product results corresponding with the typical pattern of a pig belly.

\*\*\*\*

#### CLAIMS

- 1. Method for manufacturing a coherent, robust piece of meat from smaller pieces of meat, wherein the smaller pieces of meat are treated with one or more edible salts in order to form a layer with solubilized proteins on the surface of the smaller pieces of meat and wherein the pieces of meat are held against each other to form the coherent piece of meat, characterized in that the solubilized proteins are selectively denatured and coagulated such that the smaller pieces of meat are mutually joined but themselves substantially retain the properties of unprocessed raw meat because proteins present in the smaller pieces of meat substantially do not denature.
- Method as claimed in claim 1, characterized in that the denaturation of the solubilized proteins is brought about
   by causing a pH decrease between the smaller pieces of meat.
- 3. Method as claimed in claim 2, characterized in that at least on the interface between the smaller pieces of meat and the layer with solubilized proteins a temporary pH decrease is brought about of 0.5 to 3, preferably 0.75 to 3, 20 more preferably 1 to 2.
- 4. Method as claimed in claim 2 or 3, characterized in that the pH decrease is obtained by adding an additive causing a delayed acidification in a quantity such that the pH value decreases considerably in the layer with solubilized proteins, while the resulting final pH decrease in the pieces and/or portions of meat is insufficient to affect the taste.
  - 5. Method as claimed in claims 1-4, **characterized in that** the denaturation is brought about by means of a heat
    treatment at a temperature lying between 40°C and 95°C,
    preferably between 45°C and 75°C and more preferably between
    50°C and 65°C.

30

6. Method as claimed in claim 5, characterized in that the temperature increase for the purpose of denaturation

17

during the heat treatment amounts to 0.1 to 50°C/sec. for the applicable upward and downward temperature range.

- 7. Method as claimed in any of the foregoing claims, characterized in that the solubilized proteins are formed on the surface of the smaller pieces of meat by treating them with one or more suitable salts by massaging and/or tumbling.
  - 8. Method as claimed in claim 9, characterized in that the treatment of the smaller pieces of meat with one or more suitable salts takes place in a rotating drum.
  - 9. Method as claimed in any of the foregoing claims, characterized in that the solubilized proteins are at least partially formed by preparing a forcemeat from finely reduced meat with water and one or more suitable salts which is mixed with the smaller pieces of meat.

10

- 10. Method as claimed in claim 9, characterized in that the smaller pieces of meat are slightly salted prior to addition of the forcemeat.
- 11. Method as claimed in claim 9, characterized in that the relatively smaller pieces of meat are massaged with one 20 or more suitable salts prior to addition of the forcemeat.
  - 12. Method as claimed in any of the foregoing claims, characterized in that common salt is used for solubilizing proteins.
- 13. Method as claimed in any of the claims 5-12,
  25 characterized in that after the heat treatment a forced cooling is applied until the meat has reached a temperature lower than about 45°C.
- 14. Method as claimed in any of the foregoing claims, characterized in that the meat is held in a mould or container at least during the selective denaturation and the coagulation.
  - 15. Method as claimed in claim 14, characterized in that the meat is held under pressure in a mould or container.
- 16. Method as claimed in claim 14 or 15, characterized

  35 in that the meat is arranged in a vacuum bag which is placed in the mould or container.
  - 17. Method as claimed in any of the foregoing claims, characterized in that meat reduced in size is used as starting material and the denaturation and coagulation

18

process is performed while the meat is held in a thin layer under light pressure to form a product with the texture of thinly cut red meat.

18. Coherent piece of meat formed from smaller pieces5 of raw meat joined by denatured and coagulated solubilized protein.

\*\*\*\*

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A23L1/31

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X	US.A.3 740 235 (ECHRICH & SONS, INC.) 19 June 1973 see column 4, line 37 - column 5, line 10; claims 1,2	1,5,9, 12-14,18		
X	WO,A,85 02520 (G.A. VAN SCHOUWENBURG) 20 June 1985 see page 3, paragraph 2; claim 1; example	1,5,6, 14,16,18		
Y	see page 4, paragraph 3	2		
X	EP,A,O 289 862 (SUN VALLEY POULTRY LIMITED) 9 November 1988	1,6,7,18		
A	<pre>see column 2; claims 1,3,8,9,13; examples 1,3,4</pre>	5		
	-/			

Further documents are listed in the continuation of box C.	Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:  A document defining the general state of the art which is not considered to be of paracular relevance  E earlier document but published on or after the international filing date  'L' document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  'O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  'P' document published prior to the international filing date but later than the priority date elsimed	To later document published after the mternanonal filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention.  "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone.  "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered to involve an inventive step when the document is committed with one or more other such documents, such committed with one or more other such documents, such commitmed with one or more other such documents, such commitmed with one or more other such documents.
Date of the actual completion of the international search  12 June 1995	Date of mailing of the international search report 21.06.95
Name and maning andress of the ISA  European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2  NL - 2280 HV Rujnwijk  Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo ni, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Kanbier, D
	1

#### INTERNATIONAL SEARCH REPORT

•

Inter. nal Application No PCT/NL 95/00106

#### INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Interr. al Application No PCT/NL 95/00106

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
US-A-3740235	19-06-73	NONE		
WO-A-8502520	20-06-85	CH-A- 657019 CA-A- 1219490 DE-A- 3466468 EP-A,B 0164372 JP-T- 61500647 US-A- 4680183	15-08-86 24-03-87 05-11-87 18-12-85 10-04-86 14-07-87	
EP-A-0289862	09-11-88	DE-A- 3877048 GB-A,B 2204224	11-02-93 09-11-88	
EP-A-0322009	28-06-89	CA-A- 1327723 DE-A- 3866091	15-03-94 12-12-91	
US-A-4399164	16-08-83	US-A- 4259363	31-03-81	
FR-A-1595217	08-06-70	NONE		
US-A-3890451	17-06-75	NONE		
GB-A-2198921	29-06-88	NONE		

#### REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty. - For receiving Office use only -

# PCT/NL 9 5 / 0 0 1 0 6 International Application No.

2 1 MAART 1995

21.03.95

International Filing Date

#### **OCTROOIRAAD**

P.C.T. INTERNATIONAL APPLICATION
Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference (if desired) (12 characters maximum) P HP/LR/VS-1

Box No. I TITLE OF INVENTION Method for preparing a coherent piece of meat from smaller pieces of meat, and the coherent piece of meat obtained.						
Box No. II APPLICANT						
Name and address: (Family name followed by given name: for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)	This person is also inventor.					
Van Schouwenburg, Gerrit Antoni Lavendel 3	Telephone No.					
8101 CR RAALTE	Facsimile No.					
The Netherlands	Teleprinter No.					
State (i.e. country) of pationalisty:	idance					
State (i.e. country) of nationality:  The Netherlands (NL)  State (i.e. country) of residence:  The Netherlands						
This person is applicant all designated all designated States except the	United States America only the States indicated in the Supplemental Box					
Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)						
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)	This person is:  applicant only  applicant and inventor  inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)					
State (i.e. country) of nationality:  State (i.e. country) of res	idence:					
	e United States the States indicated in the Supplemental Box					
Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.						
BOX NO. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR C	CORRESPONDENCE					
The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	gent X common representative					
designation. The address must include postal code and name of country.)	Telephone No. 070 - 36 54 833					
Prins, Hendrik Willem Arnold & Siedsma Sweelinckplein 1	Facsimile No. 070 - 34 52 140					
NL-2517 GK THE HAGUE	Teleprinter No.					
The Netherlands	31086 ahs nl					
Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.						

Sheet No. .....

PONL 95/00106

Box N	o.V	DESIGNATION OF STATES							
The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):									
Regional Patent									
	AP	ARIPO Patent: KE Kenya, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swaziland and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT							
X	EP	European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT							
	OA	OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)							
Natior	nal Pa	tent (if other kind of protection or treatment desired, speci	fy on	dotted	line):				
	AM	Armenia		MD	Republic of Moldova				
	AT	Austria		MG	Madagascar				
	ΑU	Australia		MN	Mongolia				
	BB	Barbados		MV	V Malawi				
	BG	Bulgaria		MX	Mexico				
	BR	Brazil		NL	Netherlands				
	BY	Belarus		NO	Norway				
X	CA	Canada		NZ	New Zealand				
	CH:	and LI Switzerland and Liechtenstein		PL	Poland				
	CN	China		PT	Portugal				
	CZ	Czech Republic		RO	Romania				
	DE	Germany		RU	Russian Federation				
	DK	Denmark		SD	Sudan				
	EE	Estonia		SE	Sweden				
	ES	Spain		SI	Slovenia				
	FI	Finland		SK	Slovakia				
	GB	United Kingdom		TJ	Tajikistan				
	GE	Georgia		TT	Trinidad and Tobago				
	HU	Hungary		UA	Ukraine				
X	JP	Japan	X	US	United States of America				
	KE	Kenya							
	KG	Kyrgyzstan		UZ	Uzbekistan				
	KP	Democratic People's Republic of Korea		VN	Viet Nam				
			۵.		16 Animalian State (Grants and State of				
	KR	Republic of Korea			oxes reserved for designating States (for the purposes of al patent) which have become party to the PCT after				
	KZ	Kazakhstan			of this sheet:				
	LK	Sri Lanka		]					
	LR	Liberia		]					
	LT	Lithuania		]					
	LU	Luxembourg		]					
	LV	Latvia		]					
		The state of the s							

In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all designations which would be permitted under the PCT except the designation(s) of

The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the pagment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

Sheet No. ....3... PC\_VL 9 5 / 0 0 1 0 6

	Box No. VI PRIORITY CLAIM Further priority claims are indicated in the Supplemental Box								
	The priority of the following e	arlier application	(s) is hereby	claimed:					
	Country (in which, or for which, the application was filed)		g Date nth/year)	44	Application N	o.	Office of filing (only for regional or international application)		
DEL BY RO	item(1) (NL) The Netherlands	(21.03.19 March 2		LNE	-94 <u>5</u> 0044	2 NL	-OR		
	item (2)			,					
	item (3)								
	Mark the following check-box if the certified copy of the earlier application is to be issued by the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office (a fee may be required):  The receiving Office is hereby requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):								
	Box No. VII INTERNATIO	NAL SEARCHI	NG AUTHO	RITY					
	Choice of International Searce are competent to carry out the intern	Choice of International Searching Authority (ISA) (If two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used): ISA / EP							
	Earlier search Fill in where a search (international, international-type or other) by the International Searching Authority has already been carried out or requested and the Authority is now requested to base the international search, to the extent possible, on the results of that earlier search. Identify such search or request either by reference to the relevant application (or the translation thereof) or by reference to the search request:  Country (or regional Office):  Date (day/month/year):  Number:								
	The Netherlands (NL) 05.07.1994 SN 23857 NL						_		
	Box No. VIII CHECK LIST								
	This international application the following number of she	ets: 1 separate signed 5 X fee calculation sheet							
	1. request : 3 sheets power of attorney  2. description : 16 sheets 2 Copy of general 6 separate indications					lications concerning			
	2. description : 16 3. claims : 3	sheets sheets	2. pc	wer of attorn	ey <sup>6.</sup>	deposited mi	croorganisms		
	4. abstract : 1 sheets 3. statement explaining 7. nucleotide and/or ami sequence listing (disk								
	5. drawings : 0 	sheets sheets	4. X pr	riority docume lentified in Bo	ent(s) g i	other (specif	y):		
	Figure No of the drawings (if any) should accompany the abstract when it is published.								
	Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT  Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).								
	A	e of the person signing	, and the capacity	,	, on angle (1) and the test		1		
	181110								
f	Schumann, Bernard Herman Johan for: Prins, Hendrik Willem								
			— For recei	ving Office u		,			
	Date of actual receipt of th international application:	e purported	21	MAART 19	75	21. 03. 95)	2. Drawings:		
	3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:								
	4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):								
	International Searching Au specified by the applicant:	thority ISA /	<u> </u>	، ليا ،	intil search fee i	earch copy delayed s paid			
	Date of receipt of the record	onv	_	tional Bureau		<del>/</del>	1		
	Date of receipt of the record of by the International Bureau:	.ору	ე 3	APRIL	1995	03.04.95	1		

Form PCT/RO/101 (last sheet) (January 1994; reprint January 1995)

See Notes to the request form

Werkwijze voor het vervaardigen van een samenhangend stuk vlees uit kleinere stukken vlees, en het verkregen samenhangende stuk vlees

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het vervaardigen van een samenhangend stuk vlees uit kleinere stukken vlees en op het verkregen samenhangende stuk vlees.

Het is bekend, dat door het masseren van vlees met 5 keukenzout en/of andere (eetbare) zouten zich op het oppervlak van het vlees een laagje van opgeloste eiwitten (solubilized proteins) vormt. Een dergelijke bewerking kanbijvoorbeeld worden uitgevoerd door gezouten stukken vlees enige tijd in een ronddraaiende trommel te masseren en te 10 kneuzen ("tumblen"). Ook is het bekend, dat op een dergelijke wijze behandelde stukken vlees, tegen elkaar geperst kunnen worden, bijvoorbeeld in een mal, waardoor na enige tijd een zekere samenhang tussen de stukken vlees ontstaat.

De op deze wijze verkregen binding tussen de stukken 15 vlees is echter gering en het verkregen samengestelde stuk vlees valt gemakkelijk in de oorspronkelijke stukken uiteen.

Ook is op een op deze wijze gevormd stuk vlees niet snijvast, dat wil zeggen dat het niet of nauwelijks gesneden kan worden zonder uiteen te vallen.

20

Voorts is bekend, dat een veel stabielere verbinding tussen stukken vlees kan worden verkregen door de met zout gemasseerde en vervolgens tegen elkaar geperste stukken vlees te verhitten tot een temperatuur van ± 65°C of hoger in de kern (het zgn. kookproces). Door dit verhittingsproces worden 25 de zich aan en op het oppervlak van de stukken vlees bevindende opgeloste eiwitten gecoaguleerd, waardoor de stukken vlees stevig met elkaar worden verbonden. Op deze wijze worden veel gekookte vleesprodukten uit relatief kleine stukken vlees vervaardigd.

Met de bekende werkwijzen is het derhalve mogelijk om uit kleinere stukken vlees een rauw stuk vlees samen te stellen, dat echter gemakkelijk uiteenvalt en in feite slechts in een vormhoudende verpakking, zoals blik, of, bij 5 kleinere samenstellende delen, een darm, verkocht kan worden.

Als alternatief is het met de bekende werkwijzen mogelijk een gekookt samengesteld stuk vlees te vervaardigen.

In een aldus bij de bekende werkwijzen door koken of althans een hittebehandeling bij relatief hoge temperatuur 10 verkregen stuk vlees zijn echter niet alleen de eiwitten op het oppervlak van de samenstellende stukken vlees gecoaguleerd, doch zijn ook de niet opgeloste eiwitten in het inwendige van de samenstellende stukken gedenatureerd. Het aldus verkregen stuk vlees heeft volstrekt andere eigenschappen dan rauw vlees voor wat betreft smaak, bijtweerstand etc..

15

25

30

机场点

De boven beschreven bekende werkwijzen bieden geen mogelijkheid om uit kleinere stukken vlees een groot, stevig samenhangend stuk vlees te vervaardigen, waarvan de samenstellende delen nog rauw zijn. Dit betekent, dat het met de bekende techniek niet mogelijk is om bijvoorbeeld een uit 20 stukken samengestelde biefstuk te vervaardigen. Dit heeft tot gevolg, dat de stukken vlees, die op zichzelf van goede kwaliteit zijn, doch kleine afmetingen hebben, als afvalvlees worden behandeld.

Opgemerkt wordt, dat in de Europese octrooiaanvrage 0201975 een werkwijze is beschreven, volgens welke wel samengestelde rauwe stukken vlees bereid kunnen worden. Volgens die bekende werkwijze worden de met elkaar te verbinden stukken vlees gemengd met een als een soort lijm werkende eiwitoplossing, die fibrinogeen bevat alsmede thrombine en bij voorkeur ook katalytische hoeveelheden transaminase en calciumionen. Een bezwaar van deze bekende methode is, dat het gevormde mengsel gedurende relatief lange tijd, in de orde van  $\pm$  10 uur, in een vorm gehouden dient te worden. Als eiwitoplossing wordt voorts bloedplasma met een verhoogde fibrinogeenconcentratie gebruikt, hetgeen een groot bezwaar is.

De uitvinding beoogt nu een werkwijze ter beschikking te stellen, waarmee het mogelijk is samengestelde rauwe

stukken vlees te vervaardigen, zonder dat een eiwitoplossing, al dan niet in de vorm van bloedplasma, toegevoegd dient te worden.

Hiertoe wordt volgens de uitvinding een werkwijze verschaft voor het vervaardigen van een samenhangend, stevig stuk vlees uit kleinere stukken vlees, waarbij de kleinere stukken vlees met één of meer eetbare zouten worden behandeld voor het vormen van een laag met opgeloste eiwitten aan het oppervlak van de kleinere stukken vlees en waarbij de stukken 10 vlees tegen elkaar worden gehouden voor het vormen van het samenhangende stuk vlees, gekenmerkt doordat de opgeloste eiwitten selectief worden gedenatureerd en gecoaguleerd, zodanig dat de kleinere stukken vlees met elkaar worden verbonden doch zelf in hoofdzaak de eigenschappen van 15 onbehandeld rauw vlees behouden.

De uitvinding berust derhalve op een inzicht, dat het mogelijk is om zich op de oppervlakken van de relatief kleine stukken vlees bevindende opgeloste eiwitten selectief deels te denatureren en te coaguleren, zonder dat de eiwitten in het inwendige van de stukken of deeltjes vlees zelf gedenatureerd worden. In het volgende zal de uitvinding nader worden toegelicht.

20

25

Bij de denaturatie van eiwitten ontvouwen de eiwitten zich en kan er een stabiel netwerk tussen de eiwitten worden gevormd, de zogenaamde coagulatie. Bij het ontvouwen van de eiwitten in waterig milieu verandert de structuur van de eiwitten, worden S = S bruggen verbroken en komen de a-polaire aminozuurgroepen geëxposeerd te liggen. In de coagulatiefase wordt er een netwerk gevormd dat gestabiliseerd wordt 30 door elektrostatische krachten en hydrofobe interacties, waarbij in het laatste stadium ook nieuwe intermoleculaire covalente S = S verbindingen kunnen worden gevormd.

De denaturatie van eiwitten is een endotherm proces, zodat energie moet worden toegevoerd. Bij de coagulatie komt weer energie vrij. Voor ieder type eiwit is de temperatuur waarbij de denaturatie begint en de energie die voor denaturatie nodig is, verschillend. Voorts is de snelheid van het denaturatieproces temperatuur-afhankelijk. Door vlees met zout(en) te behandelen lost een deel van de eiwitten op.

Denaturatie is voor opgeloste eiwitten een soortgelijk proces, dat zich voltrekt als hierboven beschreven. Wel is het zo door de met zout behandelde eiwitten door de dubbellaag stabieler zijn en dat er meer energie en/of een 5 hogere temperatuur voor nodig is om tot denaturatie te komen. De elektrische lading van eiwitmoleculen wordt mede sterk beïnvloed door de pH. De elektrostatische bindingen zijn lading-afhankelijk en worden dan ook in sterke mate beïnvloed door de pH en dit kan het coagulatieproces en dus de vorm en sterkte van het netwerk beïnvloeden.

10

35

In de processen, die voor de onderhavige uitvinding van belang zijn is sprake van selectieve denaturatie, en wel een selectieve denaturatie die nauwkeurig gestuurd kan worden. Met de term selectieve denaturatie wordt een selectie naar plaats (tussen de vleesdelen in en op de oppervlakken van de vleesdelen) en/of een eiwit-selectieve denaturatie omvat. Het doel hierbij is stukken vlees zodanig met elkaar te verbinden dat weer "één stuk" vlees ontstaat, terwijl het rauwe karakter van het vlees als geheel behouden blijft. Dit is mogelijk indien coagulatie selectief op en/of nabij de grensvlakken plaatsvindt en de stukken vlees zelf niet denatureren. Het resultaat is dan een produkt dat alle karakteristieken van rauw vlees behoudt, maar waarin op het grensvlak tussen de delen (partiële) coagulatie heeft plaats gevonden waarbij verbindingen tussen eiwitten zijn ontstaan die sterk genoeg zijn om vleesdelen stevig aaneen te binden.

Hiervoor is het in eerste instantie noodzakelijk dat zich aan het oppervlak van de vleesdelen voldoende hoeveelheden eiwitten bevinden die na denaturatie een netwerk kunnen vormen van de gewenste sterkte. Dit kan worden bereikt door het vlees te masseren of tumblen met zout (keukenzout en/of andere eetbare alkalimetaalzouten) waardoor een deel van de eiwitten kan oplossen en naar buiten treden, terwijl ook aan het oppervlak van de vleesdelen de eiwitten "geactiveerd" worden.

Een selectieve denaturatie van de opgeloste eiwitten aan het oppervlak van de vleesdelen kan nu op verschillende manieren bereikt worden.

In de eerste plaats kan dit door de omstandigheden die nodig zijn om denaturatie te bewerkstelligen alleen plaatselijk is, i.e. op het grensvlak te doen optreden en vervolgens een coagulaat te vormen. Dit kan bijvoorbeeld gereali-5 seerd worden door een pH-daling te creëren specifiek aan het grensvlak tussen de vleesdelen met de laag opgeloste eiwitten. Deze pH-daling verandert de elektrostatische lading van de eiwitmoleculen en zet daarmee het coagulatieproces in gang waarbij eerst elektrostatische verbindingen tot stand komen en vervolgens hydrofobe en tenslotte ook covalente verbindingen kunnen worden gevormd. Dit proces verloopt relatief langzaam en duurt enkele uren.

10

20

25

30

35

De op deze wijze verkregen binding tussen vleesdelen is van een ander karakter dan de bekende zuur-gel-vorming, zoals 15 deze bijvoorbeeld uit de droge worst-bereiding bekend is. Deze bekende zuur-gel-vorming vindt plaats rond of onder het iso-elektrisch punt en is een, in eerste instantie reversibele, netwerkvorming van eiwitten waardoor zeer zwakke verbindingen tussen de vleesdelen ontstaan. De op deze wijze verkregen samenhang is voldoende voor een fijn verkleind produkt als een droge worst, maar is ontoereikend voor grotere vleesdelen. De stevigere verbinding tussen de vleesdelen welke volgens de uitvinding worden verkregen zijn vergelijkbaar met de verbindingen die door hitte-denaturatie ontstaan. De verbindingen tussen de vleesdelen als gevolg van zuur-denaturatie ontstaan als de pH, lokaal, zeer sterk daalt, veel lager dan bij een zuur-gelvorming het geval is. De pH kan bijvoorbeeld 0,5 tot 3, bij voorkeur 0,75 tot 3, meer bij voorkeur 1 à 2 pH-punten dalen.

In een praktische uitvoering van de werkwijze volgens de uitvinding kunnen kleinere stukken vlees enige tijd gemasseerd worden bijvoorbeeld in een roterende trommel, met zout en water. Daardoor vormt zich aan de buitenkant van de vleesdelen een laag van uitgetreden, opgeloste vleeseiwitten. Vervolgens wordt een additief, dat vertraagde verzuring bewerkstelligt (GDL [qluconodeltalacton] of een ingekapseld eetbaar zuur, zoals citroenzuur, melkzuur, wijnsteenzuur, enz.; als kapsel kan een vetkapsel of een suikerkapsel gebruikt worden) homogeen door deze laag verdeeld en worden

de vleesdelen in een mal of houder gedaan en onder lichte druk gehouden. De eiwitlaag denatureert en binnen enkele uren, en afhankelijk van de gekozen vorm van vertraging, vormt zich een stevige kitlaag tussen de vleesdelen. Van 5 belang is dat de pH-daling alleen lokaal dat zeggen in de laag opgeloste eiwitten en eventueel aan het oppervlak van de vleesdelen maar niet in het inwendige van de vleesdelen, optreedt. De hoeveelheid zuur die vrijkomt, zowel in absolute zin als ook per tijdseenheid, moet zodanig zijn dat de pH in 10 de grenslaag snel daalt tot pH 1 à 2. Het zuur diffundeert daarna uit de grenslaag en verdeelt zich door de vleesmassa. Door de hoeveelheid zuur, en het vertragingsmechanisme juist te kiezen kan men tijdelijk een sterke daling van de pH op het grensvlak verkrijgen, terwijl, nadat het evenwicht 15 hersteld is, de totale pH-daling gering is, zodat de overige eiwitten niet denatureren en ook de smaak niet beïnvloed wordt.

De gewenste selectieve denaturatie kan ook op andere wijze worden gerealiseerd. In feite kan iedere chemische substantie die in een bepaalde concentratie denaturatie teweegbrengt hiervoor worden gebruikt.

20

25

30

Een tweede mogelijkheid om selectieve denaturatie te bewerkstelligen is de vleesdelen na het masseren of tumblen met zout(en) een warmtebehandeling te geven, zodat alleen (bepaalde) eiwitten die zich tussen de vleesdelen en op het oppervlak daarvan bevinden, denatureren en wel op een zodanige wijze dat een voldoende sterk netwerk ontstaat om de delen aaneen te binden, maar dat de eiwitten die het rauwe karakter van het vlees definiëren niet of nauwelijks denatureren.

Om dit te realiseren kan gebruik worden gemaakt van het feit dat (a) verschillende fracties eiwitten bij verschillende temperaturen coaguleren, (b) een temperatuur/tijdsrelatie voor de denaturatie

35 coagulatiereactie bestaat, (c) door de behandeling met zout en de daardoor resulterende dubbellaag bepaalde eiwitten een grotere stabiliteitsverandering ten aanzien van hittedenaturatie hebben verkregen dan andere en (d) de in een bepaalde structuur, zoals een spierstructuur, opgesloten

eiwitten minder temperatuurgevoelig zijn dan de door de massage met zout vrijgemaakte (opgeloste) eiwitten, welke aan de oppervlakte naar buiten zijn getreden. Dit alles het mogelijk om een zodanige warmtebehandeling te kiezen, dat althans een deel van de opgeloste eiwitten tussen de vleesdelen in een netwerk vormt, dat de vleesdelen aaneen bindt, terwijl de overige eiwitten door deze warmtebehandeling nauwelijks of niet denatureren en dat het rauwe karakter van het vlees behouden blijft.

Spiereiwit denatureert in een aantal, van elkaar onderscheidbare en meetbare fasen. De reden hiervoor is gelegen in het feit dat "vleeseiwit" in feite een mengsel is van verschillende eiwitten. De belangrijkste hiervan zijn myosine en actine; het grootste deel van het spiereiwit bestaat uit 15 deze eiwitten. Deze eiwitten zijn verantwoordelijk voor de opbouw en het functioneren van het samentrekkende gedeelte van een spier. Naast deze eiwitten zijn er nog de "sarcoplasmatische" eiwitten en het bindweefseleiwit (collageen).

10

20

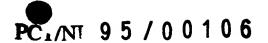
35

Tenslotte zijn er nog verscheidene in zeer kleine hoeveelheden voorkomende wateroplosbare eiwitten waaronder bijvoorbeeld myoqlobine, dat verantwoordelijk is voor de kleur van vlees.

Wanneer nu bijvoorbeeld een bepaalde hoeveelheid warmte aan bovenstaand mengsel van spiereiwitten wordt toegevoerd is 25 met de DSC-techniek (differential scanning calorimetrie) te herkennen dat ruwweg bij 50, 63 en 80°C de kern van het denaturatietraject van achtereenvolgens myosine, sarcoplasmatisch eiwit en actine ligt. Bij lagere temperaturen vindt ook wel denaturatie plaats maar met een 30 snelheid die sterk afneemt met afnemende temperatuur.

Het gedrag van bovenstaande eiwitten, dus de ligging van het coagulatietraject op de temperatuurschaal en de hoogte van de temperatuur waarbij coagulatie begint, wordt verder beinvloed door de pH en door de elektrostatische lading als gevolg van toegevoegde zouten.

Om nu de gewenste selectieve denaturatie te verkrijgen moet een bepaald temperatuurtraject, dat afhankelijk is van de pH, de elektrostatische stabiliteit en de structuur van



het materiaal, in een gedefinieerde tijd worden doorlopen. De maximale temperatuur die bereikt mag worden om het rauwe karakter niet te verliezen is ongeveer 60°C, een temperatuur waarbij de myofibrillaire eiwitten denatureren. Maar reeds bij een temperatuur vanaf 40°C begint de denaturatie, zij het zeer langzaam. Bij het stijgen van de temperatuur gaat dit steeds sneller. Het is dan ook van belang het hogere gedeelte van het temperatuurtraject snel te doorlopen en ook weer snel af te koelen tot onder een temperatuur waarbij de denaturatieprocessen beginnen.

Uit het vorengaande moge blijken, dat de genoemde temperatuur van 60°C geen absolute bovengrens is. Zolang de toegevoerde warmte in hoofdzaak door de opgeloste eiwitten aan de oppervlakken van de stukken vlees geabsorbeerd wordt, worden de vleesdelen zelf niet of nauwelijks beïnvloed.

Afhankelijk van ondermeer de hoeveelheid opgeloste eiwitten, de duur van de temperatuurbehandeling, de totale hoeveelheid te behandelen vlees kan de behandelingstemperatuur variëren. Daarbij zijn temperaturen tot 90°C mogelijk.

15

25

30

Het verhittingsproces dient, zoals reeds opgemerkt, kortstondig te zijn. De exacte duur hangt van een aantal factoren af, zoals de hoeveelheid opgeloste eiwitten, de pH en de elektrostatische stabiliteit, de structuur waarin de eiwitten zijn opgenomen, de totale hoeveelheid te behandelen vlees, de dikte van het te verhitten stuk vlees, de maximale temperatuur, de warmtecapaciteit van de houder waarin zich het vlees bevindt etc. Een optimale combinatie van behandelingsduur en de genoemde en eventuele niet genoemde factoren kan in de praktijk proefondervindelijk op relatief eenvoudige wijze worden bepaald.

Het is gewenst om althans de verhitting in een temperatuurtraject tussen een relatief lage temperatuur in de orde van 35 à 45°C, bijvoorbeeld 40°C, tot de maximale temperatuur, bijvoorbeeld 65 tot 75°C, snel te kunnen doorlopen. Hetzelfde geldt voor het afkoelen na de temperatuurbehandeling.

Opgemerkt wordt, dat de verwarmingsmethoden, waarbij door hoogfrequente golven warmte in het materiaal wordt gege-

nereerd, niet goed bruikbaar lijken. Door een in het materiaal variërend vet-, water- en zoutgehalte kan meestal geen voldoende gelijkmatige verwarming worden verkregen. Ook kan plaatselijk soms een zeer sterke verwarming optreden (hot 5 spots) waardoor aldaar het rauwe karakter van het vlees verloren qaat.

Opgemerkt wordt dat bij toepassing van warmtebronnen, die van buiten af op de vleesmassa inwerken, zoals bijvoorbeeld verwarmde platen, die aan weerszijden van de vleesmassa worden geplaatst, rekening gehouden dient te worden met het feit, dat de buitenzijde van de vleesmassa eerder de gewenste temperatuur bereikt dan de kern van de vleesmassa. Tijdens het verwarmen ontvangt de buitenste laag meer warmte-energie dan de meer naar binnen gelegen lagen van de vleesmassa. Anderzijds blijven na beëindiging van het verhittingsproces de meer naar binnen gelegen delen van de vleesmassa langer warm. Van belang is, dat de totale warmte-energie die aan de vleesdelen wordt toegevoerd, niet zo groot is dat het rauwe karakter van het vlees, en in het bijzonder van de buitenste lagen van de vleesmassa, verloren gaat. De juiste verwarmingsmethode kan van geval tot geval proefondervindelijk bepaald worden.

10

15

20

25

35

Het afkoelen kan zodanig geforceerd geschieden met behulp van één der daartoe bekende technieken. Gedacht kan worden aan toepassing van een (zout-)waterbad, of een koeltunnel. Ook kan met vloeibare stikstof of CO2 gekoeld worden.

Om goede resultaten te bereiken verdient het de voorkeur dat de gemiddelde temperatuurtoename 0,1-50°C/sec. 30 of hoger bedraagt in het kritische traject van circa 40°C tot circa 60°C, waarbij een zo homogeen mogelijke temperatuur door het produkt wenselijk is. Hierbij de minimale eis van 0,1°C/sec. in het opgaande traject vanaf 40°C tot de maximale temperatuur en het neergaande traject tot weer 40°C. Bij een maximale temperatuur van 65°C bedraagt de verwarmingstijd maximaal 500 sec.. De bereikte temperatuur en het doorlopen van het temperatuurtraject bepalen afhankelijk van factoren als de grondstof, dubbellaag, druk en pH, de mate van selectieve denaturatie en de sterkte van het verkregen

netwerk. Het gevolg van het nauwkeurig gedefinieerde verwarmingstraject is dat de mogelijkheid wordt geboden om bijvoorbeeld alleen de als eerste denaturerende fractie, het eiwit myosine, te denatureren en te laten coaguleren. Het 5 coagulaat zal zich bovendien alleen vormen op de grensvlakken en in de tussenruimte tussen de onderscheiden vleesdeeltjes; de structuur van de eiwitten die nog in het natuurlijk verband in de stukjes spierweefsel zitten en die stabieler zijn zal nagenoeg onaangetast blijven. Ook bij de hogere temperaturen coagulerende eiwitten zullen niet aangetast 10 worden. Daar deze vooral voor het veranderen van het uiterlijk van vlees als gevolg van warmtebehandeling verantwoordelijk zijn zal het uiterlijk, ondanks de gevormde samenhang in de vleesmassa, dat van een rauw produkt behouden. 15

Met name de beschermende invloed van de dubbellaag om de met zout behandelde eiwitten is in dit geval van bijzonder belang. Dit maakt het mogelijk om een veel intensievere warmtebehandeling te geven dan anders mogelijk zou zijn. Een niet met zout behandeld produkt zou zelfs bij een korte warmtebehandeling bij bijvoorbeeld 50 à 60°C verder gedenatureerd zijn en niet of nauwelijks in staat zijn een netwerk te vormen tussen de vleesdelen en het rauwe karakter zou grotendeels of geheel verloren zijn gegaan.

20

25

Een factor die naast de warmtebehandeling een grote rol speelt met betrekking tot de sterkte van het netwerk dat gevormd wordt is de pH van het vlees. Door de pH te variëren kan de sterkte van het netwerk worden beïnvloed. Met voordeel kan voorafgaand aan de warmtebehandeling de pH van de vlees-30 massa op een voorafbepaalde waarde worden ingesteld.

De pH beïnvloedt namelijk sterk de elektrostatische lading van eiwitten zodat de dubbellaagbescherming wordt beïnvloed. Wel moet er rekening mee worden gehouden dat tegelijkertijd ook de stabiliteit van de overige eiwitten veran-35 dert en in veel gevallen zal de warmtebehandeling moeten worden aangepast als de pH van het vlees verandert.

Zo kan bijvoorbeeld in een produkt bij een pH van 5.9 bij een gegeven warmtebehandeling een stevig netwerk tussen de vleesdelen worden gevormd zonder dat het produkt zijn

rauwe karakter verliest terwijl ditzelfde produkt bij een pH van 5,5 en een identieke warmtebehandeling een veel minder stevig netwerk vormt waarbij de vleesstukken ook denatureren en veel van de rauwe karakteristieken verloren gaan.

5

20

25

30

35

Als bij de tweede wijze van selectief denatureren (dus door middel van gedoseerde warmte) kleine stukjes vlees of fijn verkleind vlees als basismateriaal wordt gebruikt en het produkt in een laag wordt uitgespreid en licht onder druk worden gehouden, dan kan door het manipuleren van het denaturatieproces door middel van warmte een textuur aan dit vlees worden gegeven die de textuur van spiervlees benadert. Wordt nu het denaturatieproces voorgezet door het produkt langere tijd op hogere temperatuur te houden, zodanig dat verregaande denaturatie van eiwitten plaatsvindt, dan ontstaat een produkt dat in textuur gelijk is aan de textuur van gekookt spiervlees en dat niet op gebraden gehakt of hamburger lijkt zoals zou zijn te verwachten. Wel moet de dikte van het produkt gekozen worden in overeenstemming met de gecreëerde textuur. Op deze wijze kunnen bijvoorbeeld plakken ham, rosbief en dergelijke gemaakt worden.

Stukken vlees van iedere grootte kunnen op deze wijze worden samengevoegd. Ook sterk verkleind vlees kan toegevoegd worden. Het gewenste eindprodukt en de tekening van het produkt bepaalt in belangrijke mate de keuze van het soort vlees dat wordt gebruikt en van de grootte van de stukken. Bij kleinere stukken kan een bonte schakering ontstaan, hetgeen visueel minder aantrekkelijk kan zijn, doch voor bijvoorbeeld gepaneerd verkochte produkten, zoals schnitzels, geen probleem is.

Van belang bij selectieve denaturatie is de kitlaag van opgeloste eiwitten aan de oppervlakte van de vleesdelen of deeltjes. Zoals reeds gezegd kan deze laag worden verkregen door het vlees met zout(en) te tumblen of mengen. Het is echter ook mogelijk om het tumbleproces kort te houden of zelfs geheel te vermijden door een kleine hoeveelheid farce (mager vlees met zout en water sterk verkleind) toe te voegen, die de rol van kitlaag althans deels kan overnemen.

Het is ook mogelijk stukken vlees uit kleinere stukken samen te stellen tot een goed samenhangend rauw produkt door

aan de kleine stukken een uit fijn verkleind mager vlees, water en zout(en) vervaardigde farce toe te voegen. Een dergelijke farce bevat opgeloste vrijgemaakte eiwitten. Aan de farce kunnen behalve zout (en) en eventueel fosfaat nog 5 andere stoffen zoals smaak- en reukstoffen, conserveermiddelen en dergelijke worden toegevoegd. Met behulp van zout(en) kunnen voorts, zoals hierboven beschreven, de eiwitten van de stukken vlees enigszins worden opgelost. Dit kan na menging met de farce door het de zich in de farce bevindende zout (en) of door afzonderlijke 10 toegevoeg(de) zout(en) geschieden. Vervolgens kan dan een mengsel van de stukken vlees met bijvoorbeeld 10% farce gevormd worden en aan een warmtebehandeling van de boven beschreven soort worden onderworpen, teneinde een samenhangend maar nog steeds rauw stuk vlees te verkrijgen 15 door denaturatie en coagulatie van de opgeloste eiwitten uit zowel de stukken vlees als de farce.

De stukken vlees kunnen tevoren met zout behandeld zijn en het zout kan ook licht ingewerkt zijn doch een intensieve 20 behandeling door bijvoorbeeld "tumblen" is bij toepassing van de genoemde farce slechts kort of niet nodig. De gecoaguleerde eiwitten kunnen uit de stukken vlees en uit de farce, maar ook in hoofdzaak uitsluitend uit de farce afkomstig zijn.

Het rauwe produkt is na het boven beschreven selectieve denaturatie/coagulatieproces gereed voor verdere verwerking.

Een volgens één der in het voorgaande beschreven methoden verkregen vleesprodukt kan op dezelfde wijze als een "normaal", niet samengesteld, rauw stuk vlees worden behandeld, bijvoorbeeld gesneden, gekookt, gebraden etc. De werkwijze volgens de uitvinding is bij proefnemingen bijzonder geschikt gebleken voor het bereiden van allerlei soorten rauwe vleeswaren.

#### <u>Voorbeeld 1: hamlappen</u>

25

30

35

De grondstof, mager varkensvlees, wordt door een voorsnijder gewolfd tot stukken met vuistgrootte en een gewicht van 100 - 200 g. De vleesbrokken worden in een tumbler onder vacuum getumbeld met 2% keukenzout, 0,05% natriumascor-

baat, 0,1% polyfosfaat en 3% ijs. Na 12 uur tumblen worden 1,5% ingekapseld GDL toegevoegd. Het kapsel van het GDL is vet en smelt bij een temperatuur van boven 60°C. Het GDL gehalte is 70%. Vervolgens wordt nog enkele minuten 5 doorgetumbled tot het GDL goed verdeeld is door de vleesmassa. De vleesmassa bestaat nu uit brokken vlees, gelegen in een slijmerige laag van opgelost uitgetreden eiwit. De pH in de slijmlaag moet boven 5,7 liggen. Deze massa wordt in vacuümzakken afgevuld en gevacumeerd. Het gevacumeerde vlees wordt vervolgens in de zak in een mal 10 gelegd waarin het een bepaalde vorm aanneemt, en het materiaal worden in de mal in de koeling (0-2°C) gelegd. Tussen het toevoegen van GDL en het in de mal leggen mag maximaal 60 minuten verstrijken. Het het waterige milieu lekt het GDL uit het vetkapsel en zorgt voor een gedoseerde lokale 15 verzuring. Het type kapsel moet afgestemd worden op de gewenste pH daling per tijdseenheid. Na 24 - 72 uur wordt de nu aaneengesloten en stug geworden vleesmassa uit de zak genomen en op een snijmachine tot plakken gesneden van de gewenste dikte. De plakken kunnen vers of diepgevroren worden 20 verkocht. De eind pH van de vleesplakken is bij een begin pH van 5,75 gedaald tot een pH 5,5 - 5,6.

#### Voorbeeld 2: Schnitzel

25

Schouders zonder been, vet en zwoerd en waarvan het hieltje is verwijderd, worden in een gehaktmolen verkleind. Dit moet zodanig gebeuren dat het vlees niet gesneden maar uit elkaar getrokken wordt; echter zonder het vlees te versmeren. Het doel hiervan is het oppervlakte van elk stukje 30 vlees zo groot mogelijk te maken zodat er maximale hechting met andere stukken vlees mogelijk is. De stukken vlees hebben een doorsnede van gemiddeld 20 mm en wegen 10 - 40 g. Na het verkleinen wordt het vlees met 0,8 - 1,2% zout in een menger 3 - 4 minuten gemengd. Ongeveer honderdvijftig gram van het met zout gemengde vlees wordt door middel van een hamburger portioneermachine op een stapsgewijs voortbewegende transportband geportioneerd. De band loopt over een verwarmde plaat heen die de band en het daarop liggende vlees kan verwarmen. Boven deze verwarmde plaat bevindt zich een

eveneens verwarmde plaat die na iedere stap van de band naar beneden komt en daarbij het vlees tot de gewenste dikte samendrukt. Tussen de plaat en de band wordt het vlees nu verwarmd. Bij een temperatuur van de platen van 50°C is een 5 verwarmingstijd van 1,5 à 3 minuten voldoende om een goed samenhangend maar volledig rauw produkt te krijgen. Na het verwarmen loopt het produkt door een bad met een eiwitteervloeistof en wordt vervolgens gepaneerd.

#### 10 Voorbeeld 3: Spekblokjes

35

Een mengsel van varkensvlees bestaande uit bijvoorbeeld schouders, buiken, afsnijdsels en vet wordt meerdere malen gewolfd door een voorsnijderplaat, zodanig dat een homogene massa ontstaat met stukjes vlees van zo'n 30-50g. Hierbij is 15 het van belang dat tijdens het verkleinen de stukken vlees deels scheuren, zodat de stukjes een onregelmatige vorm en een groot aanhechtingsoppervlak krijgen.

Het vlees wordt 15 minuten intensief gemengd met 2% nitrietzout, 0,5% ascorbaat en 2% keukenzout, zodanig dat een 20 stug vleesdeeg ontstaat. Dit moet vervolgens 24 uur rusten, zodat de hulpstoffen en het zout de gelegenheid krijgen zich egaal door de individuele vleesstukjes te verdelen. Daarna wordt het deeg opnieuw gemengd, onder vacuüm, na toevoeging van verdere kruiden, reducerende suikers, gdl en andere 25 hulpstoffen noodzakelijk voor een goede kleurvorming en houdbaarheid.

De deegmassa wordt nu verwerkt op een machine zoals beschreven in de Europese octrooiaanvrage nr. 90.201741.7, waarbij het op een lopende band wordt geëxtrudeerd in een 30 continue plak met een dikte van ongeveer 1 cm. Na insluiting door een tweede lopende band wordt de vleesmassa onder lichte druk in 3 minuten verwarmd tot een temperatuur van 50°C. Op de bovenzijde van de nu aaneengesloten vleesplak wordt vloeibaar rookaroma verneveld, waarna de plak in een stikstoftunnel in 4 minuten aangevroren wordt tot -6°C. De licht bevroren continue strook vlees wordt vervolgens in repen gesneden die, na 10 minuten temperen, gesnipperd worden tot blokjes van 1x1x1 cm in bijvoorbeeld een Urschel snijmachine.

#### Voorbeeld 4: Hamblokjes

Mager varkensvlees bestaande uit schouder- of achterham vlees, wordt verkleind en gemengd zoals omschreven in voorbeeld 3, waarbij de totale zouttoevoeging beperkt wordt 5 tot 1,5 nitrietzout. Na egalisatie van de hulpstoffen door de vleesmassa wordt deze op vergelijkbare wijze verwerkt, waarbij er echter speciaal op gelet moet worden dat zich geen luchtbellen in de deegmassa bevinden. Bij een dikte van 0,5 cm wordt het produkt in 8 minuten tussen de banden in fasen geleidelijk verhit tot een kerntemperatuur van 75°C. Na het verwarmen wordt de continue vleesplak voorgekoeld door het met koud water te douchen. Vervolgens wordt het in een stikstoftunnel verder gekoeld tot -2 tot +10°C. Na in repen gesneden te zijn om verdere verwerking mogelijk te maken wordt het vlees tot blokjes of reepjes gesneden.

#### Voorbeeld 6: Bacon

10

15

20

25

35

Mager varkensvlees wordt gewolfd door een 19 mm plaat. Zout (4,5%), nitriet (150 ppm), ascorbaat (0,05%) en een mengsel van 50% ingekapseld gdl en ingekapseld melkzuur/laktaat (1,5%) worden intensief door het vlees gemengd.

Hamplaatvet met aanhangend vlees wordt samen met 10-20% mager vlees, 2% zout, 5% water gedurende 1-1,5 uur intensief getumbeld, waarna het door een 13 mm plaat wordt gewolfd. Na toevoeging van 1,5% nitrietzout, 0,05% ascorbaat en 1% ingekapseld qdl/melkzuur mengsel wordt het nog 10 minuten qemenqd. Het vlees en het vet worden nu laagsgewijs geëxtrudeerd in plakken van 20x50 cm, zodanig dat een gelaagd produkt ontstaat met vleeslagen van 1,5 cm en vetlagen van 0,6-1,0 cm dik. De bodem en toplaag zijn vlees.

Dit produkt wordt in een zak, onder vacuüm, gedurende 48 uur gekoeld weggelegd. In deze tijd zullen het gdl en het melkzuur uit het kapsel lekken en een sterke verzuring geven aan de oppervlakte van de vleesdeeltjes, zodanig dat een stevig netwerk ontstaat dat de vleesdeeltjes aaneenbindt. Ook in de vetmassa wordt een netwerk gevormd tussen de vleeseiwitten dat als mager vlees was toegevoegd en door het mengen met zout een coating van opgeloste eiwitten aan de

oppervlakte van de vetstukjes heeft gevormd. Dit netwerk zet zich ook op het contactvlak tussen vlees en vet voort, zodat de lagen stevig met elkaar verbonden zijn.

Na aanvriezen kan het produkt vervolgens tot reepjes, blokjes of plakjes worden gesneden.

De extrusiemethode kan ook zodanig aangepast worden dat een gelaagd produkt ontstaat dat overeenkomt met het typische patroon van een varkensbuik.

\*\*\*\*

#### CONCLUSIES

10

- 1. Werkwijze voor het vervaardigen van een samenhangend, stevig stuk vlees uit kleinere stukken vlees, waarbij de kleinere stukken vlees met één of meer eetbare zouten worden behandeld voor het vormen van een laag met 5 opgeloste eiwitten aan het oppervlak van de kleinere stukken vlees en waarbij de stukken vlees tegen elkaar worden gehouden voor het vormen van het samenhangende stuk vlees, met het kenmerk, dat de opgeloste eiwitten selectief worden gedenatureerd en gecoaguleerd, zodanig dat de kleinere stukken vlees met elkaar worden verbonden doch zelf in hoofdzaak de eigenschappen van onbehandeld rauw vlees behouden, doordat in de kleinere stukken vlees aanwezige eiwitten in hoofdzaak niet denatureren.
- 2. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat 15 de denaturatie van de opgeloste eiwitten wordt bewerkstelligd door tussen de kleinere stukken vlees een pH-daling te bewerkstelligen.
- 3. Werkwijze volgens conclusie 2, met het kenmerk, dat althans aan het grensvlak tussen de kleinere stukken vlees en 20 de laag met opgeloste eiwitten een tijdelijke pH-daling wordt bewerkstelligd van 0,5 tot 3, bij voorkeur 0,75 tot 3, meer bij voorkeur 1 tot 2.
- 4. Werkwijze volgens conclusie 2 of 3, met het kenmerk, dat de pH-daling wordt verkregen door toevoeging van een 25 additief dat een vertraagde verzuring bewerkstelligt in een zodanige hoeveelheid, dat in de laag met opgeloste eiwitten de pH-waarde sterk daalt, terwijl de uiteindelijke optredende pH-daling in de stukken en/of deeltjes vlees onvoldoende is om de smaak te beïnvloeden.
- 30 5. Werkwijze volgens conclusie 1-4, met het kenmerk, dat de denaturatie wordt bewerkstelligd middels een warmtebehandeling bij een temperatuur die is gelegen tussen 40°C en 95°C, bij voorkeur tussen 45°C en 75°C, meer bij voorkeur tussen 50°C en 65°C.

- 6. Werkwijze volgens conclusie 5, met het kenmerk, dat de temperatuurtoename ten behoeve van de denaturatie tijdens de warmtebehandeling 0,1 tot 50°C/sec. bedraagt voor het geldende opgaande en neergaande temperatuurtraject.
- 7. Werkwijze volgens een der voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat de opgeloste eiwitten worden gevormd aan het oppervlak van de kleinere stukken vlees door deze met een of meer geschikte zouten door masseren en/of kneuzen te behandelen.

5

15

20

30

- 8. Werkwijze volgens conclusie 9, met het kenmerk, dat de behandeling van de kleinere stukken vlees met één of meer geschikte zouten in een roterende trommel plaatsvindt.
  - 9. Werkwijze volgens één der voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat de opgeloste eiwitten althans deels worden gevormd door uit fijn verkleind vlees met water één of meer geschikte zouten een farce te bereiden, die met de kleinere stukken vlees wordt gemengd.
  - 10. Werkwijze volgens conclusie 9, met het kenmerk, dat de kleinere stukken vlees enigszins gezouten worden alvorens de farce toe te voegen.
  - 11. Werkwijze volgens conclusie 9, met het kenmerk, dat de relatief kleinere stukken vlees met één of meer geschikte zouten gemasseerd worden alvorens de farce toe voegen.
- 12. Werkwijze volgens een der voorgaande conclusies,25 met het kenmerk, dat voor het oplossen van eiwitten keukenzout wordt gebruikt.
  - 13. Werkwijze volgens een der conclusies 5 tot en met 12, met het kenmerk, dat na de warmtebehandeling een geforceerde koeling wordt toegepast tot het vlees een temperatuur lager dan circa 45°C heeft bereikt.
  - 14. Werkwijze volgens een der voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat het vlees althans tijdens de selectieve denaturatie en de coagulatie in een mal of houder wordt gehouden.
- 35 15. Workwijze volgens conclusie 14, met het kenmerk, dat het vlees onder druk in een mal of houder wordt gehouden.
  - 16. Werkwijze volgens conclusie 14 of 15, met het kenmerk, dat het vlees wordt opgenomen in een vacuümzak die in de mal of houder wordt geplaatst.

- 17. Werkwijze volgens één der voorgaande conclusies, met het kenmerk, dat als uitgangsmateriaal verkleind vlees worden gebruikt en dat het denaturatie- en coagulatieproces wordt uitgevoerd terwijl het vlees in een dunne laag onder lichte druk wordt gehouden voor het vormen van een produkt met de textuur van dun gesneden spiervlees.
  - 18. Samenhangend stuk vlees, gevormd uit kleinere stukken rauw vlees verbonden door gedenatureerd en gecoaguleerd opgelost eiwit.

\*\*\*\*

#### UITTREKSEL

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het vervaardigen van een samenhangend, stevig stuk vlees uit kleinere stukken vlees, waarbij de kleinere stukken vlees met één of meer eetbare zouten worden behandeld voor het vormen van een laag met opgeloste eiwitten aan het oppervlak van de kleinere stukken vlees en waarbij de stukken vlees tegen elkaar worden gehouden voor het vormen van het samenhangende stuk vlees, met het kenmerk, dat de opgeloste eiwitten selectief worden gedenatureerd en gecoaguleerd, zodanig dat de kleinere stukken vlees met elkaar worden verbonden doch zelf in hoofdzaak de eigenschappen van onbehandeld rauw vlees behouden, en op het verkregen samenhangende stuk vlees.

\*\*\*\*

## TENT COOPERATION TREAT

**PCT** 

08/116223

### INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

		Notification of Tran	nsmittal of International Search Report
Applicant's or agent's file reference	FOR FURTHER (F	Form PCT/ISA/220) a	as well as, where applicable, item 5 below.
P HP/LR/vS-1	ACTION		
International application No.	International filing date (day	month/year) (Ea	rliest) Priority Date (day/month/year)
PCT/NL95/00106	21/03/95		21/03/94
Applicant			
VAN SCHOUWENBURG, Gerrit /	Antoni	•	
This international search report has been according to Article 18. A copy is being t	prepared by this International transmitted to the Internationa	Searching Authority : l Bureau.	and is transmitted to the applicant
This international search report consists of X It is also accompanied by a cop	of a total of 3 by of each prior art document of	sheets. ited in this report.	·
1. Certain claims were found unsea	archable (see Box I).		·
2. Unity of invention is lacking (see	e-Box II).		The state of the s
3. The international application co	ontains disclosure of a nucleotid	le and/or amino acid s	equence listing and the
international search was carried	dout on the basis of the sequer	nce listing	
·	d with the international applica		
fur	nished by the applicant separat	ely from the internation	onal application,
	but not accompanied by matter going beyond the	a statement to the effe disclosure in the inter	ect that it did not include national application as filed.
			·
Tra	anscribed by this Authority		·
	• •		ļ
4. With regard to the title, X the	text is approved as submitted	by the applicant.	
	e text has been established by t		as follows:
			•
	•		
5. With regard to the abstract,			
1	e text is approved as submitted		
. — Bc	e text has been established, according to the control of the control of the comments arch report, submit comments	in one month from th	), by this Authority as it appears in ne date of mailing of this international
1			
6. The figure of the drawings to be pul			
Figure No as	suggested by the applicant.		None of the figures.
be	cause the applicant failed to su	ggest a figure.	
bė	cause this figure better charact	erizes the invention.	·

# A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A23L1/31

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

#### **B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US,A,3 740 235 (ECHRICH & SONS, INC.) 19 June 1973 see column 4, line 37 - column 5, line 10; claims 1,2	1,5,9, 12-14,18
X	WO,A,85 02520 (G.A. VAN SCHOUWENBURG) 20 June 1985 see page 3, paragraph 2; claim 1; example	1,5,6, 14,16,18
Y	see page 4, paragraph 3	2
X	EP,A,O 289 862 (SUN VALLEY POULTRY LIMITED) 9 November 1988	1,6,7,18
A	see column 2; claims 1,3,8,9,13; examples 1,3,4	5

X Further documents are listed in the continuation of box C.	Patent family members are listed in annex.
*Special categories of cited documents:  A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  E earlier document but published on or after the international filing date  L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the
<ul> <li>O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</li> <li>P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</li> </ul>	document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.  *& document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 June 1995	<b>2 1</b> . 06. 95
Name and mailing address of the ISA  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  NL - 2280 HV Rijswijk	Authorized officer
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016	Kanbier, D

1

	Lation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	Delevera de utaias No
ategory *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
1	EP,A,O 322 009 (UNILEVER NV) 28 June 1989 see page 2, line 50 - line 52; claims 11,12	2
A	DATABASE WPI Week 8408, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 84-046072 & JP,A,59 006 863 (SUZUHIRO KAMABOKO K) 13 January 1984 see abstract	2
A	US,A,4 399 164 (NUTRISEARCH COMPANY) 16 August 1983 see column 5; claim 1; examples 10-17	2
A	FR,A,1 595 217 (CORPORACION ARGENTINA DE PRODUCTORES DE CARNES) 8 June 1970 see page 4, line 34 - page 6, line 22; claims 1,2 see page 7, line 32 - page 9, line 29 see page 10 - page 12, line 37	1,5, 7-16,18
A	US,A,3 890 451 (J.L. KESZLER) 17 June 1975  see column 8; claims 1,3,5-7	1,5,9, 11-14, 16,18
	see column 3 - column 4	
A	GB,A,2 198 921 (R. HOLT ET AL) 29 June 1988	1,7,9, 11,12, 17,18
	see page 5; claims 1,4,9,11,13; figure	

## INTE ATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In Ational Application No
PCT/NL 95/00106

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-3740235	19-06-73	NONE	
WO-A-8502520	20-06-85	CH-A- 657019 CA-A- 1219490 DE-A- 3466468 EP-A,B 0164372 JP-T- 61500647 US-A- 4680183	15-08-86 24-03-87 05-11-87 18-12-85 10-04-86 14-07-87
EP-A-0289862	09-11-88	DE-A- 3877048 GB-A,B 2204224	11-02-93 09-11-88
EP-A-0322009	28-06-89	CA-A- 1327723 DE-A- 3866091	15-03-94 12-12-91
US-A-4399164	16-08-83	US-A- 4259363	31-03-81
FR-A-1595217	08-06-70	NONE	
US-A-3890451	17-06-75	NONE	
GB-A-2198921	29-06-88	NONE	